

## 原 著

## 肺結核症例の血清因子と細胞性免疫能の検討

佐藤 博・佐々木 昌子・熊野 伸子  
大泉 耕太郎・本宮 雅吉・今野 淳

東北大学抗酸菌病研究所内科

受付 昭和61年1月17日

SERUM FACTORS AND CELL-MEDIATED IMMUNITY IN PATIENTS  
WITH PULMONARY TUBERCULOSIS

Hiroshi SATO\*, Masako SASAKI, Nobuko KUMANO, Kotaro  
OIZUMI, Masakichi MOTOMIYA and Kiyoshi KONNO

(Received for publication January 17, 1986)

Serum factors and cell-mediated immunity were compared between the group of chronic excretors of tubercle bacilli and the group of the patients in which the tubercle bacilli had become negative within 6 months after the starting of the treatment.

The reduction of the ratio of serum albumin to globulin, increase of the erythrocyte sedimentation rate and immunosuppressive acidic protein, were found in the chronic excretor of tubercle bacilli. The depression of cell-mediated immunity, judged by the decrease of the ratio of Helper / inducer T lymphocytes to Suppressor / cytotoxic T lymphocytes and the reduced skin reaction to PPD was also found in the group of chronic excretors. These results seem to indicate the persistence of inflammation and the depression of cell-mediated immunity in the host of the patients with pulmonary tuberculosis who excrete the tubercle bacilli chronically.

**Key word** : Chronic excretors of tubercle bacilli, キーワーズ : 排菌持続肺結核症例, 細胞性免疫  
Cell-mediated immunity, Skin reaction to PPD 能, PPD 皮内反応

## 緒 言

すぐれた抗結核剤の出現により、肺結核は今や完全な治癒が期待される疾患とされている。しかし、中には抗結核剤投与をうけながら長期間にわたって排菌を続ける症例がある。これらの症例について、治療開始後すみやかに菌が陰転し、再排菌を認めない症例と比較して血清因子、細胞性免疫能に差があるかどうかを検討した。要旨は第60回日本結核病学会総会で報告したが、今回は諸家の報告と比較し考察を加えて報告する。

## 方 法

対象：仙台厚生病院に入院し、ヒト型結核菌が検出され、6カ月以上抗結核剤投与をうけた症例の中から、痰中結核菌が2カ月以上連続して塗抹、培養ともに陰性を示すことのない症例を選び、これを排菌持続群（21例、男20、女1、平均年齢58.1歳）とし、抗結核剤投与開始後6カ月以内に痰中結核菌が陰性となり、その後引き続き陰性である症例を菌陰転群（37例、男29、女8、平均年齢49.9歳）とした。排菌持続群はすべて有空洞例であり、排菌

\* From the Research Institute for Tuberculosis and Cancer, Tohoku University, 4-1 Seiryomachi, Sendai 980 Japan.

持続期間は10カ月から23年であり、すべてが多剤耐性菌喀出例である。

検査のための採血は発熱、胸部X線像の増悪を認めない時期の早朝空腹時、服薬前に行なった。

免疫抑制酸性蛋白 (Immunosuppressive Acidic Protein : IAP) の定量は三光純薬製のキットを使用して一次元免疫拡散法により行なった。

末梢血リンパ球のサブセット

ヘパリン加静脈血から Ficoll-Paque による比重遠心法によって分離した単核球を10%牛胎児血清加 RPMI 1640 培地に懸濁し、プラスチックシャーレに入れ37°C、2時間、5% CO<sub>2</sub> 中に静置後、非付着細胞を集めリンパ球とした。Brossら<sup>1)</sup>の方法に準じて0.02%ポリリジン塗布したスライドガラスに塗抹し、Hsuら<sup>2)</sup>の方法に従ってマウス抗ヒトリンパ球モノクローナル抗体と反応させたのちビオチン化ウマ抗マウス IgG と反応させ、アミノエチルカルバゾールを基質としてペルオキシダーゼで赤色に染まる細胞数を光学顕微鏡を用いて計算した。用いたモノクローナル抗体は Becton Dickin-

son 社製の抗 Leu 4 (T リンパ球)、抗 Leu 3 a (helper/inducer T)、抗 Leu 2 a (suppressor/cytotoxic T) である。

### 皮内反応

PHA 皮内反応は PHP-P (Difco) を10mcg/ml になるように生理食塩水にとかし、その0.1mlを前膊皮内に注射し、24時間後に発赤径を測定することによって判定した。

PPD 反応は PPD (日本ビーシージー社製) を生理食塩水にとかして0.5mcg/mlとし、その0.1mlを前膊皮内に注射して24時間後に発赤径を測定した。

有意差の検定は Student の t テストを用いて、<0.05 の場合に有意差ありと判定した。

### 成績

末梢血中の血清蛋白と白血球、リンパ球%を比較した結果を表1に示した。血清総蛋白とガンマーグロブリン値は両群の間に有意差を認めなかったが、排菌持続群では

表1 血清蛋白と白血球

	排菌持続群 (21)	菌陰転群 (37)	P
血清総蛋白 (g/dl)	6.9±0.5	6.7±0.5	
γグロブリン (%)	17.7±6.1	15.6±3.7	
A/G	1.50±0.44	1.87±0.39	< 0.05
白血球数 (×100)	73.9±12.4	54.5±14.3	< 0.05
リンパ球 (%)	26.3±7.6	35.1±8.8	< 0.05

[ ] 症例数

表2 赤沈値と免疫抑制酸性蛋白 (IAP)

	排菌持続群 (21)	菌陰転群 (37)	P
赤沈 (1時間値)	36.7±23.8	12.3±16.1	< 0.01
IAP	768.5±226.7	386.2±98.2	< 0.01

[ ] 症例数

菌陰転群と比較し、A/Gが有意に低かった。白血球数は排菌持続群では有意に多かったが、リンパ球の割合が低く、好中球が多いことを示している。

炎症の指標と考えられる赤沈値と免疫抑制酸性蛋白 (IAP) の測定結果を表2に示してある。排菌持続群では赤沈値が亢進しており、免疫抑制酸性蛋白 (正常値は500以下) も高値を示していた。

CRP の測定結果を表3に示した。菌陰転例22例中+が2例、±が7例で13例が陰性であるのに対して排菌持続群では陰性例はなく、+以上が21例中18例であった。

末梢血中のTリンパ球サブセットの分析結果は表4のごとくである。Tリンパ球の%と helper/inducer T リンパ球 (T<sub>HI</sub>) は両群の間に差を認めないが、suppressor/cytotoxic T リンパ球 (T<sub>SC</sub>) は排菌持続群で有意に高く、従って T<sub>HI</sub>/T<sub>SC</sub> は排菌持続群で有意の低下を示していた。

PHA、PPD に対する皮内反応の結果を図1と図2に示した。PHA に対する皮内反応では排菌持続群で低下している症例が多いと考えられたが、発赤の平均径±標準偏差は排菌持続群、菌陰転群でそれぞれ16.1±6.5、

表3 CRP (24時間)

	-	±	+	2+	≥3+
排菌持続群(21)	0	3	10	5	3
菌陰転群(22)	13	7	2	0	0

( ) 症例数

表4 末梢血Tリンパ球サブセット

	排菌持続群(14)	菌陰転群(14)	P
Tリンパ球(%)	75.9±8.6	68.6±11.7	
TH1 (%)	38.3±14.0	46.3±11.2	
Tsc (%)	36.8±14.6	20.8±6.6	< 0.01
TH1/Tsc	1.37±1.06	2.55±1.42	< 0.05

( ) 症例数

TH1: helper/inducer T lymphocytes

Tsc: suppressor/cytotoxic T lymphocytes

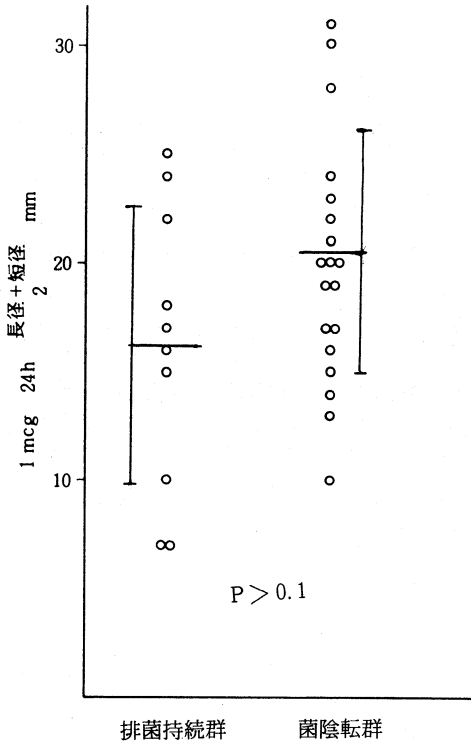


図1 PHA皮内反応

19.9±5.6であり、有意差は認められなかった。PPDに対する皮内反応では菌陰転群ではすべての症例が10 mm以上であったが、排菌持続群では21例中5例が9 mm以下であった。発赤の平均径±標準偏差は菌陰転群、排菌持続群でそれぞれ16.1±5.2, 12.7±4.1であり、両群の間に有意差ありと判定された。

考 察

早期発見と適切な治療により大部分の肺結核症例は治療開始後すみやかに菌が陰転し、その経過は良好である。しかし、中には長期間排菌を認め難治肺結核症例となる例がある。これらの症例について血清因子、細胞性免疫能を検討しようと試みた。菌陰転群と比較すると排菌持続群では血清総蛋白、ガンマグロブリンの値に有意差

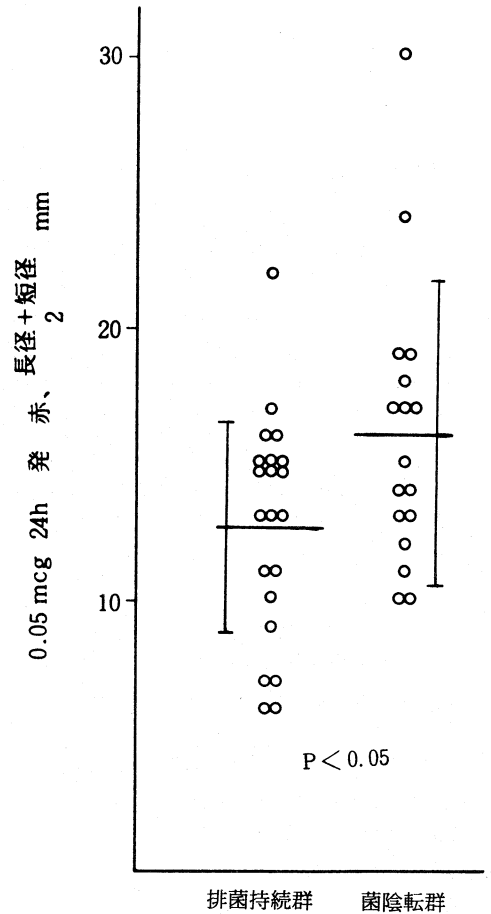


図2 PPD皮内反応

を認めなかったが、栄養状態の指標と考えられるA/Gは排菌持続群では有意の低下を認めた。栄養状態の悪い例での免疫能の低下は既に報告されているが<sup>3)-6)</sup>、今回の成績はこれらの報告と一致していた。

免疫抑制酸性蛋白 (IAP) は石田, 田村ら<sup>7)</sup>が癌患者血清中に検出した糖蛋白であり、癌患者の経過を追うのに有用とされているが、炎症性疾患でも上昇すること

が報告されており、肺結核患者でも高値を示すことが認められている<sup>8)</sup>。排菌持続群では菌陰転群と比較し有意に高い値を示していた。免疫機能の低下を反映するとともに炎症の1つの指標と考えられ、排菌持続群では赤沈値とCRPの亢進例が多いことから持続的な炎症の存在が考えられる。

細胞性免疫能を知る1つの方法として近年モノクローナル抗体を用いてTリンパ球を種々のサブセットに分類することが行なわれるようになり、helper/inducerとされるTリンパ球(T<sub>HI</sub>)とsuppressor/cytotoxicとされるTリンパ球(T<sub>Sc</sub>)の比が重要と考えられ、T<sub>HI</sub>/T<sub>Sc</sub>の低下は細胞性免疫能の低下を示唆する1つの指標と考えられている<sup>9)</sup>。肺結核症例については三上<sup>5)</sup>は未治療の活動性肺結核症例では治療とともにこれまで異常だったT<sub>HI</sub>/T<sub>Sc</sub>が正常化することを報告しており、北沢ら<sup>10)</sup>は肺結核症例では健常者と比べてT<sub>HI</sub>が低値であると述べている。しかし、持続的に排菌を認める症例と菌陰転を認める肺結核症例の間の比較についての報告は見当たらない。今回の成績では排菌持続群でT<sub>HI</sub>/T<sub>Sc</sub>の低下を認めたがこれはT<sub>Sc</sub>が高いためと考えられる。

Tリンパ球サブセットの検討には、リンパ球と蛍光で標識したモノクローナル抗体を反応させたあとcell sorterで分別するか、リンパ球とモノクローナル抗体の反応のあとに蛍光で標識した二次抗体を作用させて蛍光顕微鏡で見ることが行なわれているが、今回我々の用いた方法はスライドガラス上で染色し、光学顕微鏡で見ることができ、標本を保存することができるので必要に応じて見直すことが可能なので検体が少ない場合は有用な方法であると考えられる。

PHA (Phytohemagglutinin) による皮内反応はPHAによって非特異的に局所のTリンパ球が活性化されてリンホカインを遊離した結果生じる炎症性反応と考えられ、Tリンパ球の機能を*in vivo*で検討する方法として用いられているが、用いるPHAの量、測定方法は研究者によって様々である。今回は1mcgを用い、宮崎<sup>11)</sup>の報告に従って24時間後の発赤径を測定した。肺結核症例でのPHA皮内反応について石橋<sup>12)</sup>は、健常人と比較して肺結核症例では反応の低下例が多いと報告している。今回の検討では排菌持続群で低下している例を認めているが、10例にしか施行できなかったせいか、菌陰転群との間に有意差を認めなかった。排菌持続群での施行例数を増して再検討すべきであると考えられる。

肺結核症例の免疫機能に関してLenziniら<sup>13)</sup>は病態に応じて多様性を示し、1つのスペクトラムを形成すると述べているが、治療に反応しない排菌持続群ではPPD皮内反応が低下していることを報告している。三上<sup>5)</sup>は慢性難治肺結核症例についてNK (Natural Killer)

細胞活性とDNCB (Dinitrochlorobenzene) に対する皮膚反応によって細胞性免疫能を検討し、高反応型、中間型、低反応型に分類し、低反応型は胸部X線像上の悪化が多いことを認めている。岳中<sup>14)</sup>は持続排菌を認める肺結核症例では排菌のない症例と比べてPPD反応には有意差を認めなかったが、DNCBに対する反応が低下していることを報告している。

排菌が続くから免疫能が低下するのか、免疫能が低下しているから排菌が続くのかは難しい問題である。排菌が陽性である時期に陰性であったPPD皮内反応が治療効果発現とともに陽性となった例も報告されている<sup>15)</sup>。Bhatnagarら<sup>6)</sup>は免疫機能の低下は排菌の原因というよりむしろ結果であろうと述べている。排菌が持続する原因としては薬剤に対する耐性、病巣に到達する薬剤の濃度が重要ではあるが、免疫機能の関与も否定しきれないので低下した免疫機能を回復させることを目的としたBRM (Biological Response Modifier) を排菌持続群に投与することも1つの方法であろうと考えられ、現在検討中である。

## 結 語

肺結核症例について排菌持続群と治療開始後6カ月以内に菌の陰性化した群の間の血清因子と細胞性免疫能を比較した。

排菌持続群では血清蛋白のA/Gが低下し、赤沈値と免疫抑制酸性蛋白の値が亢進していた。Tリンパ球のhelper/inducerとsuppressor/cytotoxicの比の低下、PPDに対する皮内反応の減弱から排菌持続群では細胞性免疫能の低下が認められた。以上の結果から慢性的に排菌を認める肺結核症例では炎症の持続と細胞性免疫能の低下が示唆される。

## 文 献

- 1) Bross, K. J., et al. : Demonstration of cell surface antigens and their antibodies by the peroxidase-antiperoxidase method, *Transplantation*, 25 : 331-334, 1978.
- 2) Hsu, Su-Ming, Raine, L. and Fanger, H. : Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques, A comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures, *J Histochem Cytochem*, 29 : 577-580, 1981.
- 3) Harland, P. S. E. G. : Tuberculin reactions in malnourished children, *Lancet* ii, 719-721, 1965.
- 4) McMurray, D. N., et al. : Development of impaired cell-mediated immunity and mod-

- erate malnutrition, *Am J Clin Nutr*, 34 : 68-77, 1981.
- 5) 三上理一郎：臨床免疫学的にみた結核発病の要因，*結核*，59 : 39-63, 1984.
  - 6) Bhatnagar, R., et al. : Spectrum of immune response abnormalities in different clinical forms of tuberculosis, *Am Rev Respir Dis*, 115 : 207-212, 1977.
  - 7) 石田名香雄，田村啓二，柴田芳実：免疫抑制酸性蛋白の性状と癌患者における検出意義，*医学のあゆみ*，115 : 423-433, 1980.
  - 8) 田村昌士，伊東宏昭：診断のすすめ方——腫瘍マーカー，レーザー診断，計量的細胞診，*内科*，52 : 651-656, 1983.
  - 9) Rosen, F. S. : The Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS), *J Clin Invest*, 75 : 1-3, 1985.
  - 10) 北沢邦彦他：肺結核患者におけるモノクローナル抗体を用いた免疫担当細胞の検討，*結核*，58 : 204, 1983.
  - 11) 宮崎澄雄：遅延型過敏皮膚反応検査法，*日本臨床*，37 : 1439-1440, 1979.
  - 12) 石橋純子：肺結核患者における免疫皮膚反応に関する研究，第1報，4反応-PPD反応，DNCB反応，PHA反応，Candida反応—の比較検討，*結核*，57 : 585-589, 1982.
  - 13) Lenzini, L., Rottoli, P. and Rottoli, L. : The spectrum of human tuberculosis, *Clin Exp Immunol*, 27 : 230-237, 1977.
  - 14) 岳中耐夫：難治性肺結核患者における免疫学的背景因子に関する研究，*結核*，56 : 267-274, 1981.
  - 15) McMurray, D. N. and Echeverri, A. : Cell-mediated immunity in anergic patients with pulmonary tuberculosis, *Am Rev Respir Dis*, 118 : 827-834, 1978.